

ОТЗЫВ

официального оппонента, доктора фармацевтических наук, профессора кафедры фармации Института живых систем Федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего образования «Северо-Кавказский федеральный университет» Министерства науки и высшего образования Российской Федерации, Манвелян Элеоноры Аслибековны на диссертацию Агацарской Яны Владимировны на тему «Фармакологические свойства 9-диметиламиноэтил-2-(4-метоксифенил)-имидазо[1,2-а]бензимидазола», представленную к защите на соискание ученой степени кандидата фармацевтических наук в Диссертационный совет Д 208.008.02 при Федеральном государственном бюджетном образовательном учреждении высшего образования «Волгоградский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации по специальности 14.03.06 - Фармакология, клиническая фармакология.

Актуальность темы.

Проблема адекватной терапии мигрени, широко распространенной в мире, является одной из приоритетных в лечении первичных головных болей. Несмотря на прогресс в исследовании патогенеза приступов мигрени, терапия ее все еще малоэффективна. В связи с этим одним из актуальных направлений фармакологического поиска является создание и разработка новых эффективных и безопасных противомигренозных лекарственных средств.

В настоящее время создание новых лекарственных препаратов для терапии мигрени представлено несколькими направлениями: разработка более эффективных и менее токсичных агонистов 5-HT₁ рецепторов (триптанов), разработка антагонистов CGRP-рецепторов (рецепторов кальцитонин-ген родственного пептида) и создание антагонистов 2A-подтипа серотониновых рецепторов. Однако терапия триптанами остается недостаточно эффективной, рецидив приступа мигрени может возникнуть у 15–40% пациентов, а повторное введение триптанов возможно не ранее, чем через 6 часов. Длительное

ОТЗЫВ

официального оппонента, доктора фармацевтических наук, профессора кафедры фармации Института живых систем Федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего образования «Северо-Кавказский федеральный университет» Министерства науки и высшего образования Российской Федерации, Манвелян Элеоноры Аслибековны на диссертацию Агацарской Яны Владимировны на тему «Фармакологические свойства 9-диметиламиноэтил-2-(4-метоксифенил)-имидазо[1,2-а]бензимидазола», представленную к защите на соискание ученой степени кандидата фармацевтических наук в Диссертационный совет Д 208.008.06 при Федеральном государственном бюджетном образовательном учреждении высшего образования «Волгоградский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации по специальности 14.03.06 - Фармакология, клиническая фармакология.

Актуальность темы.

Проблема адекватной терапии мигрени, широко распространенной в мире, является одной из приоритетных в лечении первичных головных болей. Несмотря на прогресс в исследовании патогенеза приступов мигрени, терапия ее все еще малоэффективна. В связи с этим одним из актуальных направлений фармакологического поиска является создание и разработка новых эффективных и безопасных противомигренозных лекарственных средств.

В настоящее время создание новых лекарственных препаратов для терапии мигрени представлено несколькими направлениями: разработка более эффективных и менее токсичных агонистов 5-HT₁ рецепторов (триптанов), разработка антагонистов CGRP-рецепторов (рецепторов кальцитонин-ген родственного пептида) и создание антагонистов 2A-подтипа серотониновых рецепторов. Однако терапия триптанами остается недостаточно эффективной, рецидив приступа мигрени может возникнуть у 15–40% пациентов, а повторное введение триптанов возможно не ранее, чем через 6 часов. Длительное

применение антагонистов CGRP-рецепторов ограничено в связи с повышением уровня печеночных трансаминаз. Кроме того, триптаны и антагонисты CGRP-рецепторов влияют лишь на некоторые компоненты патогенеза мигрени, не затрагивая тромбоцитарное звено. В связи с этим, внимание исследователей в настоящее время привлекает разработка 5-HT_{2A}-антагонистов. Учитывая, что молекулы серотонина и бензимидазола являются биоизостерами, для производных имидазобензимидазолов показаны антисеротониновые и противомигренозные свойства, разработка 5-HT_{2A}-антагонистов при поиске средств для лечения мигрени является актуальной задачей.

Научная новизна полученных результатов.

Впервые проведено детальное исследование активности неорганических солей 9-диэтиламиноэтил-2-(4-метоксифенил)имидазо[1,2- α]-бензимидазола в отношении 5-HT_{2A} рецепторов *in vitro* и показана селективность его антисеротонинового действия. Автором установлена способность соединения РУ-31 (дигидрохлорида 9-диэтиламиноэтил-2-(4-метоксифенил)имидазо[1,2- α] бензимидазола) улучшать церебральный кровоток на фоне серотониновой нагрузки, также определена величина полуэффективной дозы.

Впервые Агацарской Я.В. изучена антиагрегантная активность соединения РУ-31 *in vitro* и показана способность устранять агрегацию тромбоцитов, индуцированную разными агентами. Установлено, что антиагрегантное действие уменьшается в ряду: серотонин > А23187 > АДФ > адреналин > коллаген > ристоцетин. Также впервые исследовано взаимодействие соединения РУ-31 с рядом нейромедиаторных систем головного мозга *in vivo* и *in vitro* и изучена возможность изменять серотонин-опосредованный рост частоты и амплитуды ГАМК-индуцированных токов в зонах СА1 и СА3 гиппокампа. Кроме того, исследован антиноцицептивный профиль субстанции и влияние на центральные и периферические уровни проведения болевой чувствительности.

Практическая значимость работы состоит в выявлении способности соединения РУ-31 устранять транзиторные церебральные нарушения. Полученные результаты могут свидетельствовать о целесообразности проведения

расширенных доклинических исследований. Данные оценки нейрососудистых, анальгетических и антитромбогенных свойств легли в основу изучения специфической фармакологической активности нового противомигренозного средства в рамках ФЦП «Развитие фармацевтической и медицинской промышленности Российской Федерации на период до 2020 года и дальнейшую перспективу», государственный контракт № 14.N08.11.0159 от 02. 06. 2017 г.

Структура и оформление диссертации.

Диссертационное исследование изложено на 138 страницах машинописного текста и состоит из введения, обзора литературы, 5 глав результатов собственных исследований, заключения, выводов, практических рекомендаций, перечня сокращений и условных обозначений, списка литературы, включающего 76 иностранных и 43 отечественных источника. Работа иллюстрирована 20 рисунками и содержит 33 таблицы.

Во **введении** обоснована актуальность выбранной темы с учетом современной степени ее разработанности, четко сформулированы цель и задачи. Представлены научная новизна, теоретическая и практическая значимость, методология и методы исследования, положения, выносимые на защиту, степень достоверности и апробация работы, личное участие автора и сведения о публикациях.

В **первой главе** автор представил обзор отечественных и зарубежных литературных данных. В первом разделе описаны основные гипотезы патогенеза мигрени и концепции, используемые при создании новых противомигренозных средств. Второй раздел освещает потенциальные мишени для терапии мигрени, с акцентом на 2A подтип серотониновых рецепторов. В заключительном разделе автор обосновывает перспективность использования класса имидазо[1,2-а]бензимидазолов в качестве потенциальных антисеротониновых агентов и описывает основные достижения при изучении их свойств.

Во **второй главе** подробно описаны использованные в исследовании материалы и методы оценки специфической активности трех неорганических солей 9-диэтиламиноэтил-2-(4-метоксифенил)имидазо[1,2-а]бензимидазола.

Детально описаны нейрофармакологические методики изучения влияния веществ на основные нейромедиаторные системы мозга. Представлены сведения об использованных экспериментальных животных, объектах исследования, дозах и путях введения. Описаны методы статистического анализа.

Третья глава посвящена изучению антисеротониновой активности исследованных неорганических солей 9-диэтиламиноэтил-2-(4-метоксифенил)-имидазо[1,2- α]бензимидазола, для которых выявлен высокий уровень антисеротониновой активности. При сравнении 5-HT_{2A}-блокирующих свойств на модели серотонин-индуцированного сокращения рога матки крыс наибольший уровень активности зарегистрирован для соединения РУ-31 (дигидрохлорид) и показан обратимый тип связывания его с рецепторами. Учитывая основные аспекты фармакологической активности, при дизайне молекулярной структуры нового соединения автор принимает во внимание высокую стабильность аниона хлора к окислению, отсутствие заметного собственного фармакологического действия, более высокую стабильность гидрохлоридов по сравнению с нитратами, склонными, в частности, к деградации.

Для дальнейших исследований автором выбрано соединение РУ-31 (дигидрохлорид 9-диэтиламиноэтил-2-(4-метоксифенил)имидазо[1,2- α]бензимидазола) с учетом данных о фармакологической активности, токсикологических свойствах, предполагаемых способах применения и необходимости создания наиболее стойкой при длительном хранении субстанции.

В четвертой главе описано влияние соединения РУ-31 на сосудистое звено патогенеза мигрени. Показано, что в бассейне церебрального микроциркуляторного русла для соединения РУ-31 характерно развитие стойкого антисеротонинового эффекта в области более низких доз (0,5 – 10 мг/кг), превосходящего действие ципрогептадина. В диапазоне доз 15 – 30 мг/кг показатели серотонин-блокирующей активности соединения РУ-31 не уступают эффектам ципрогептадина. Методом нелинейного регрессионного анализа рассчитаны величины полуэффективных доз, составившие 10 мг/кг для

соединения РУ-31 и 14 мг/кг для ципрогептадина, использованные в дальнейшем для всех тестов *in vivo*.

В **пятой главе** представлены результаты изучения влияния соединения РУ-31 на тромбоцитарные звенья патогенеза мигрени. В первой части главы описаны антитромбоцитарные свойства соединения РУ-31, проявившего в условиях серотонин-индуцированной агрегации *in vitro* значимую антиагрегантную активность, превосходящую показатели ципрогептадина и кислоты ацетилсалициловой. Во второй части главы освещены антитромбогенные эффекты соединения РУ-31. На модели тромбоза, индуцированного аппликацией 50% хлорида железа (III), показан значимый эффект соединения РУ-31 в период наиболее выраженного формирования окклюзии.

Шестая глава посвящена детализации нейротропных механизмов рецепторного действия изучаемого соединения. Выявлено, что соединение РУ-31, блокатор 2А подтипа серотониновых рецепторов, в концентрации 1 мкМ не проявляет Н1-гистаминблокирующих, 5-НТ3-антагонистических и 5-НТ4-агонистических свойств, при этом проявляет М-холиноблокирующую активность на модели ацетилхолин-индуцированного спазма изолированной подвздошной кишки в концентрации, в 10 раз превышающей среднеэффективную концентрацию 5-НТ2А-блокирующей активности. Обоснован выбор в качестве тест-систем для дальнейшего изучения гиппокампальных эффектов изучаемого вещества зон СА1 и СА3 гиппокампа. Показано, что соединение РУ-31 способно устранять десинхронизирующее действие серотонина на нейроны мозга крыс на этапе формирования мозга и на уже сформированном мозге.

Автор исследовал центральные нейротропные механизмы рецепторного действия методами *in vivo*. Агацарская Я.В. подтвердила наличие у соединения РУ-31 центрального серотонинергического действия на модели «5-ГТФ – гиперкинеза» на основании снижения частоты встряхиваний головой, отражающего уровень гиперкинеза у животных, получавших соединение РУ-31,

и М-холиноблокирующего действия на модели ареколинового тремора, за счет значимого снижения длительности развившегося тремора. На модели пикротоксин-индуцированных судорог для соединения РУ-31 установлено выраженное увеличение времени развития тремора и судорог и сокращение количества судорожных эпизодов в 5 раз.

В **седьмой главе** представлены анальгетические свойства соединения РУ-31. Установлено, что в тестах, отражающих влияние на центральные звенья ноцицептивной системы (Тесты «Горячая пластина» и «Отдергивание хвоста»), соединение РУ-31 проявляет анальгетические свойства, уступая трамадолу. В «формалиновом» тесте, отражающем влияние на воспалительные звенья ноцицептивной системы, соединение РУ-31 проявляет обезболивающую активность, сопоставимую с действием диклофенака и превосходящую эффект 5-НТ2 – антагониста – ципрогептадина. При этом для соединения РУ-31 характерно влияние на острую и хроническую фазы воспаления.

В **главе восьмой «Обсуждение результатов»** автором проведен анализ полученных результатов в сравнении с отечественными и зарубежными литературными данными.

Степень обоснованности и достоверности научных положений, рекомендаций и выводов.

Представленный большой объем экспериментальных данных, их статистическая обработка, таблицы, графики и рисунки позволяют оценивать результаты исследования как достоверные. Выводы диссертации и практические рекомендации обоснованы, логично вытекают из полученных результатов, соответствуют поставленным цели и задачам исследования. Определенные диссертантом задачи решены в ходе исследования. Сформулированы научно-практические рекомендации, отражающие ценность полученных данных.

Опубликованные работы и автореферат диссертации полностью отражают суть и основное содержание диссертационного исследования.

Диссертационная работа производит весьма благоприятное впечатление: по сути, объему выполненных исследований, трактовке и интерпретации полученных

результатов, оформлению. Вместе с тем, в диссертации Агацарской Яны Владимировны имеются некоторые недочеты: в тексте встречаются опечатки, неточности, стилистические погрешности (минимальные). Впрочем, указанные замечания не принципиальны, не умаляют научной ценности диссертационной работы. Среди возникших по ходу знакомства и рецензирования исследования вопросов, требующих в плане научной дискуссии детализации, хотелось бы отметить:

1. Усиление фенаминовой стереотипии у животных при введении соединения РУ-31 (Таблица 6.15), с учетом отсутствия активности в тестах галоперидоловой каталепсии, апоморфиновой и L-DOPA стереотипии, трактуется как выраженное неспецифическое влияние на обратный захват дофамина, норадреналина и серотонина. Каковы, на Ваш взгляд, перспективы дальнейшего изучения соединения РУ-31 с учетом указанных аспектов?

2. Соединение РУ-31 в тесте с формалином подавляет воспалительную гиперальгезию в острой и хронической фазах наравне с показателями референтного препарата диклофенака (Таблица 8.3). Как Вам представляется, перспективно ли последующее исследование противовоспалительной активности соединения РУ-31?

3. С учетом оценки спектра фармакологической активности соединения РУ-31, детализации фармакодинамических аспектов механизма действия, какие вероятны, на Ваш взгляд, нежелательные лекарственные реакции (НЛР) при его применении либо какие возможные НЛР, прежде всего, необходимо изучить при дальнейших исследованиях?

Вопросы являются следствием интереса к работе и имеют целью уточнить отдельные результаты исследования.

Заключение. Диссертация Агацарской Яны Владимировны на тему «Фармакологические свойства 9-диметиламиноэтил-2-(4-метоксифенил)-имидазо[1,2-а] бензимидазола», представленная на соискание ученой степени кандидата фармацевтических наук является законченной научно-квалификационной работой, в которой содержится решение актуальной задачи в области нейрофармакологии.

Диссертационное исследование Агацарской Яны Владимировны полностью соответствует паспорту специальности 14.03.06 – фармакология, клиническая фармакология. Актуальность, методический комплекс, научная новизна и научно-практическая значимость работы полностью соответствуют всем требованиям п.9, указанным в «Положении о порядке присуждения ученых степеней», утвержденном Правительством РФ от 24 сентября 2013 г. № 842 (в редакции Постановления Правительства РФ №355 от 24.04.16), предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата фармацевтических наук по специальности 14.03.06 – фармакология, клиническая фармакология, а ее автор достоин присуждения искомой ученой степени кандидата фармацевтических наук по специальности 14.03.06 – фармакология, клиническая фармакология.

Официальный оппонент:

профессор кафедры фармации

института живых систем

ФГАОУ ВО «Северо-Кавказский федеральный университет»

Министерства науки и высшего образования

Российской Федерации,

доктор фармацевтических наук, доцент

«20» сентября 2019 г.

Э. А. Манвелян

Подпись доктора фармацевтических наук, профессора Манвелян Элеоноры Аслибековны «удостоверяю».

Адрес: 355000, г. Ставрополь,

ул. Пушкина 1,

Телефон: (8652) 95-68-08

Факс: (8652) 95-68-03

E-mail: info@ncfu.ru



СОГЛАСИЕ ОППОНЕНТА

Я, Манвелян Элеонора Аслибековна, доктор фармацевтических наук по специальности 14.03.06 Фармакология, клиническая фармакология, профессор кафедры фармации Института живых систем ФГАОУ ВО «Северо-Кавказский федеральный университет», даю свое согласие выступить в качестве официального оппонента по диссертации Агацарской Яны Владимировны «Фармакологические свойства 9-диметиламиноэтил-2-(4-метоксифенил)имидазо[1,2-а]бензимидазола» на соискание ученой степени кандидата фармацевтических наук по специальности 14.03.06 - Фармакология, клиническая фармакология.

Членом экспертного совета ВАК не являюсь.

О месте и дате защиты информирована.

"20" 07 2019 г.


ПОДПИСЬ

Подпись доктора фармацевтических наук, профессора Манвелян Элеоноры Аслибековны «удостоверяю».



Адрес: 355009, г. Ставрополь,
ул. Пушкина 1,
Телефон: (8652) 95-68-08
Факс: (8652) 95-68-03
E-mail: info@ncfu.ru

СВЕДЕНИЯ ОБ ОФИЦИАЛЬНОМ ОППОНЕНТЕ

МАНВЕЛЯН Э.А.

по диссертации Агацарской Яны Владимировны
«Фармакологические свойства 9-диметиламиноэтил-2-(4-метоксифенил)имидазо[1,2-а]бензимидазола»
на соискание ученой степени кандидата фармацевтических наук по специальности 14.03.06 - Фармакология, клиническая фармакология

ФИО	Манвелян Элеонора Аслибековна
Год рождения, гражданство	1964, РФ
Место работы (с указанием организации, ее ведомственной подчиненности, города), должность	Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования «Северо-Кавказский федеральный университет» Министерства науки и высшего образования Российской Федерации, г. Ставрополь профессор кафедры фармации института живых систем
Ученая степень (с указанием шифра специальности, по которой защищена диссертация)	Доктор фармацевтических наук (14.00.25 - Фармакология, клиническая фармакология)
Ученое звание (по специальности, кафедре)	Доцент по кафедре клинической фармакологии
Шифр специальности и отрасль науки	14.00.25 - Фармакология, клиническая фармакология, фармацевтические науки
Основные работы по теме диссертации (за последние 5 лет)	1. Influence of quinazolinone-4 derivatives on a blood coagulability. M. M. Manvelyan. Prizova E.Yu., Semionova I.A., Shevtsova Yu.A., Stonogina T.A. E.A. Manvelyan. Pharmacy and pharmacology– 2015. – Volume III. - Supplement 1. - P.70-71. 2. Прогноз, синтез и изучение дофаминергической активности гидрокси- и метоксифенильных производных 4-(3)хиназолинона. А. Г. Овакимян, А. А. Бичеров, И. П. Кодониди, Э. Т. Оганесян, Э. А. Манвелян и др. // Современные проблемы науки и образования. – 2015. – № 2-2. 3. Analgesic activity of new derivatives of quinazolinone-4. Manvelyan E. A., Manvelyan M. M., Codonidi I. P., Oganesyanyan E. T. Medical news of north caucasus. – 2017. Iss. 3.- Vol. 12.

	<p>- С. 307-311. 4. Исследование спектра нейротропной активности синтезированных соединений – производных хиназолинона-4. Манвелян Э.А., Манвелян М.М., Оганесян Э.Т., Кодониди И.П., Чагарова С.А., Хачатурян И.В., Свиткова В.О., Погосова Л.Э., Бабаян С.В. Экспериментальная и клиническая фармакология. - 2018. - Т. 81, №5. - С.151-152.</p>
--	--

Советник при ректорате
и. о. проректора по научной работе
ФГАОУ ВО «Северо-Кавказский федеральный
университет», д. географ. наук, профессор



Белозеров Виталий Семенович